

HIGHLY ACTIVE VARIANT AND PRODUCTION OF PROTEIN HYDROLYZATE USING THE SAME

Patent number: JP10210967
Publication date: 1998-08-11
Inventor: YUASA YASURI; KOIBUCHI KYOKO; OKAMURA HIDEKI;
KATAOKA JIRO
Applicant: AJINOMOTO CO INC
Classification:
- **international:** C12N1/15; C12P7/42
- **european:**
Application number: JP19970153139 19970528
Priority number(s):

Abstract of JP10210967

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject hydrolyzate strong in flavoring, useful for seasoning, high in nitrogen content and glutamic acid content, by treating a culture product of a specific variant belonging to *Aspergillus oryzae* with a protein in the absence of salt or under conditions of low salt content.

SOLUTION: A variant [e.g. *Aspergillus oryzae* AJ11731 strain (FERM P-15956)] excellent in culture properties, high in glutaminase activity, obtained by a method for treating *Aspergillus oryzae* with a nitrosoguanidine as a mutation agent is subjected to liquid culture. A protein such as defatted soybeans, soybean protein or wheat gluten is treated with the obtained culture product to give a protein hydrolyzate high in nitrogen content and glutamic acid.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Patent Abstracts of Japan

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-210967

(43) 公開日 平成10年(1998) 8月11日

(51) Int.Cl.⁵

識別記号

F I

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/15

C 1 2 P 7/42

C 1 2 P 7/42

// A 2 3 L 1/228

A 2 3 L 1/228

1/23

1/23

C 0 7 K 1/12

C 0 7 K 1/12

審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平9-153139

(22) 出願日 平成9年(1997) 5月28日

(31) 優先権主張番号 特願平8-333081

(32) 優先日 平8(1996)11月29日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000000066

味の素株式会社

東京都中央区京橋1丁目15番1号

(72) 発明者 湯浅 安理

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の

素株式会社食品総合研究所内

(72) 発明者 鯉淵 恭子

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の

素株式会社食品総合研究所内

(72) 発明者 岡村 英喜

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の

素株式会社食品総合研究所内

(74) 代理人 弁理士 久保田 藤郎 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 高活性変異株及びそれを用いる蛋白加水分解物の製造法

(57) 【要約】

【課題】 液体培養においてグルタミナーゼ活性とプロテアーゼ活性が共に高いアスペルギルス・オリゼ変異株を造成すると共に、これを用いた蛋白加水分解物の製造法を提供すること。

【解決手段】 アスペルギルス・オリゼに属し、液体培養においてグルタミナーゼ活性とプロテアーゼ活性が共に高い性質を有する高活性変異株並びに当該高活性変異株の培養物を、無塩もしくは低塩条件下で蛋白質に作用させることを特徴とする窒素含有率及びグルタミン酸含有率の高い蛋白加水分解物の製造法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*) に属し、液体培養においてグルタミナーゼ活性とプロテアーゼ活性が共に高い性質を有する高活性変異株。

【請求項2】 変異株が、アスペルギルス・オリゼ A J 1 1 7 3 3 1 株 (FERM P-15956) であることを特徴とする請求項1記載の高活性変異株。

【請求項3】 請求項1記載の高活性変異株の培養物を、無塩もしくは低塩条件下で蛋白質に作用させることを特徴とする窒素含有率及びグルタミン酸含有率の高い蛋白加水分解物の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、液体培養においてグルタミナーゼ活性とプロテアーゼ活性が共に高い高活性変異株及びその変異株を用いた窒素含有率及びグルタミン酸含有率の高い蛋白加水分解物の製造法に関する。より詳細には、アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*) に属し、液体培養においてグルタミナーゼ活性とプロテアーゼ活性が共に高い性質を有する高活性変異株並びに当該変異株の培養物を、脱脂大豆、大豆蛋白、小麦グルテン等の蛋白質に作用させて窒素含有率及びグルタミン酸含有率の高い蛋白加水分解物を製造する方法に関する。この蛋白加水分解物は、呈味が強く、調味料としての利用価値が高い。

【0002】

【従来の技術】 醤油、味噌等は塩化ナトリウムを高濃度を含むため、これらを製造するために用いる微生物としては、耐塩性が高いものや好塩性のものが用いられる。例えばチゴサッカロミセス・ロキシ (*Zygosaccharomyces rouxii*) などの酵母の他、麹菌であるアスペルギルス・オリゼ、アスペルギルス・ソーヤ (*Aspergillus sojae*) 等が利用されている。これら微生物は、醤油、味噌等の製造において蛋白加水分解酵素、アミラーゼ系酵素、グルタミナーゼ等の酵素を生産している。蛋白加水分解酵素、すなわちプロテアーゼ、ペプチダーゼは、蛋白質をアミノ酸に分解するために必要な酵素である。また、グルタミナーゼは、蛋白分解の際に遊離してくるグルタミンを呈味の強いグルタミン酸へ変換する酵素である。醤油、味噌等の製造においてグルタミナーゼ活性が不足する場合、グルタミンは非酵素的に旨味のないピログルタミン酸へと変化する。従って、蛋白質を原料として呈味の強い蛋白分解物を得るためには、これらのプロテアーゼ、ペプチダーゼ及びグルタミナーゼが十分に存在することが必要である。

【0003】 以前から、醤油、味噌の製造に必要とされるこれら酵素の活性を向上させることを目的として、これらの酵素活性を有する微生物をUV照射、変異剤処理等により突然変異させることによって高活性変異株を造

成する方法が行われている (井口信義：農化，29，73 (1955)、井口信義、山本喜志郎：農化，29，394 (1955)、H. Sekine, S. Nasuno and N. Iuchi: Agric. Biol. Chem., 33, 1477 (1969)、S. Nasuno and T. Nakadai: J. Ferment. Technol., 49, 544 (1971)、S. Yamamoto and H. Hirooka: J. Ferment. Technol., 52, 564 (1974)、T. Nakadai and S. Nasuno: J. Ferment. Technol., 55, 273 (1977))。

【0004】 また、固体培養においてプロテアーゼ活性とグルタミナーゼ活性が共に高い変異株を取得することは困難であると言われており、近年はプロテアーゼ高活性株とグルタミナーゼ高活性株との細胞融合による高活性菌株の造成も行われている (S. Ushijima, T. Nakadai: Agric. Biol. Chem., 51, (4), 1051 (1987)、S. Ushijima, T. Nakadai, K. Uchida: Agric. Biol. Chem., 51, (10), 2781 (1987)、S. Ushijima, T. Nakadai, K. Uchida: 醬研，17, (3), 89 (1991)、特公平3-73271号公報、特公平3-68672号公報)。

【0005】 醤油、味噌の製造は固体培養で行われているが、その培養が解放系のため、麹菌の生育の制御や麹菌以外の汚染微生物の制御が困難である。これに対して、液体培養は通常の発酵槽を用い密閉系で培養が行えるため、培地や培養条件等を一定にすることや純粋培養も可能である。液体培養については、アスペルギルス・オリゼ及びアスペルギルス・ソーヤによるプロテアーゼ生産に関する報告及び関連の特許はある (S. Ueno, M. Miyama, Y. Ohashi, M. Izumiya, and I. Kusaka: Appl. Microbiol. Biotechnol., 26, 273 (1987)、特公昭62-248485号公報、特公昭63-248390号公報、特公平3-77280号公報、特開平3-277289号公報、特公平6-7795号公報) が、アスペルギルス・オリゼ及びアスペルギルス・ソーヤ由来のグルタミナーゼ生産に関する特許はなく、その報告も少ない (S. Yamamoto and H. Hirooka: J. Ferment. Technol., 52, (8), 564 (1974)、T. Yano, S. Ashida, T. Tachiki, H. Kumaqai, and T. Tochikura: Agric. Biol. Chem., 55(2), 379 (1991)、山崎達雄、稲森和夫、内田一生：醬研，22, (1), 13 (1996))。

【0006】 また、アスペルギルス・オリゼ及びアスペルギルス・ソーヤ由来のグルタミナーゼは、熱安定性、耐塩性が低い。そのため、蛋白加水分解の際に不足するグルタミナーゼを補填するために、グルタミナーゼ活性が高く、かつ安定性に優れたバチルス属由来のグルタミナーゼ製剤やグルタミナーゼを含むプロテアーゼ製剤、クリプトコッカス属の酵母等を添加する必要があった (Y. Shimizu, A. Ueyama, K. Goto: J. Brew. Soc. Japan, 86, (6), 441 (1991)、F. Harayama: 醸協，87, (7), 503 (1992)、特公昭60-173214号公報、特公昭64-10957号公報、特開平1-108955号公報、特公平1-108955号公報、特公平1-16465号公報)。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】アスペルギルス・オリゼの培養物を蛋白質に作用させて、窒素含有率及びアミノ酸含有率、特にグルタミン酸含有率が高く、呈味力の強い蛋白加水分解物を得るためには、蛋白加水分解酵素活性とグルタミナーゼ活性が共に高いアスペルギルス・オリゼ変異株を造成する必要がある。従って、本発明の目的は、当該変異株を造成すると共に、これを用いた蛋白加水分解物の製造法を提供することである。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、アスペルギルス・オリゼに変異処理を行い、液体培養でも高いグルタミナーゼ活性を示す変異株（以下、高活性変異株と略記することがある。）を取得するに至った。この高活性変異株は、液体培養においてグルタミナーゼ活性が高いだけでなく、蛋白加水分解物の製造に必要なプロテアーゼ活性、ペプチダーゼ活性、良好な培養性も保持している。この高活性変異株の培養物を蛋白質に作用させたと、窒素含有率及びアミノ酸含有率、特に呈味力のあるグルタミン酸含有率の高い蛋白加水分解物が得られる

ことを見出し、本発明を完成した。

【0009】すなわち、本発明はアスペルギルス・オリゼに属し、液体培養においてグルタミナーゼ活性とプロテアーゼ活性が共に高い性質を有する高活性変異株並びに当該高活性変異株の培養物を、無塩もしくは低塩条件下で蛋白質に作用させることを特徴とする窒素含有率及びグルタミン酸含有率の高い蛋白加水分解物の製造法を提供するものである。

【0010】

【発明の実施の形態】本発明のアスペルギルス・オリゼ高活性変異株は、例えば各種の蛋白質分解酵素を生産するアスペルギルス・オリゼに、突然変異剤として従来からよく用いられるニトロソグアニジンを用いて作用させて得られる変異株から、培養性が良好であり、グルタミナーゼ活性が高く、かつプロテアーゼ活性が高いものを選択することにより得られる。しかし、この取得方法に限定されるものではなく、変異剤としてヒドロキシルアミン、エチルメチルスルホン酸等の一般的に用いられる他の化学物質、または紫外線、放射線、X線等の照射、あるいは変異処理なしで得られる、いわゆる自然突然変異等によっても上記性質を有する変異株を取得することが可能である。

【0011】上記の方法で取得できる本発明の高活性変異株の具体例としては、アスペルギルス・オリゼAJ117290を親株とし、これから導かれた高活性変異株G(AJ117331)がある。本菌は、工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託され、その受託番号はFERM P-15956である。この高活性変異株の主たる菌学的性状は、その親株と比較して相違はない。しかし、当該高活性変異株のグルタミナーゼ活性が親株の

約6倍である。なお、この高活性変異株のプロテアーゼ活性は親株と同様に高い。

【0012】本発明の高活性変異株の培養物は麹の液体培養物であり、グルタミナーゼ活性だけではなく各種の分解酵素を含むことから、液体培養物をそのまま使用することが好ましいが、培養物から必要とする酵素を分離、精製して使用することができる。すなわち、液体培養物から遠心分離または濾過等によって菌体を分離し、その菌体破砕液及び培養液から通常的手段、例えば塩析法、等電点沈澱法、溶媒法によって蛋白質である酵素を沈澱させたり、限外濾過法により濃縮して酵素液とすることができる。また、通常の前記法により分離採取した精製品を単独であるいは組み合わせ使用することもできる。

【0013】本発明の高活性変異株の液体培養にあたり使用する培地は、当該高活性変異株が十分に生育し得るものであればよく、炭素源、窒素源、無機塩、補助因子等からなる通常培地でよい。炭素源としては、例えば可溶性デンプン、小麦フスマあるいは小麦フスマ抽出液、グルコース、シュクロース、フラクトース、マルトース、マンニトール、エリスリトール、ラクトース、ソルボース、ガラクトース、リノール酸、オレイン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸等があり、窒素源としては、例えば大豆粉、脱脂大豆、分離大豆蛋白質、カゼイン、ペプトン等が挙げられる。また、無機塩類としては、塩化カリウム、硫酸マグネシウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素二カリウム等が、補助因子としてはコーンステイプリカー、コメ油、コーン油等の油類、シュガーエステル等の界面活性剤等が挙げられる。

【0014】培養は、高活性変異株を培地に植菌し、常法に従って通気培養すればよいが、培養条件に関しては、pH4.0～9.0、好ましくはpH5.0～8.0、温度は20～40℃、好ましくは27～33℃が適当である。また、培養時間は10～96時間、好ましくは48～72時間が適当である。このようにして得られた高活性変異株の培養物に市販酵素製剤、例えば蛋白加水分解酵素、細胞壁分解酵素、グルタミナーゼ等を含む酵素液あるいは精製した酵素製剤を目的に応じて加えても良い。

【0015】次に、本発明の高活性変異株の培養物を作用させる蛋白質としては、例えば大豆、小麦、コーンミール、ミルクカゼイン、フィッシュミール等であり、更に脱脂大豆あるいは膨化等の加工を施された種々の蛋白質、あるいはこれら種々の蛋白原料からの分離蛋白質でも良い。また、高活性変異株の培養物を蛋白に作用させる条件について述べると、例えば0.2～50%、好ましくは1～20%の原料の脱脂大豆、分離大豆蛋白質等の蛋白原料に高活性変異株の培養物を混合し、5～60℃、好ましくは30～50℃にて、6時間～15日間、好ましくは24時間～10日間反応させればよい。反応

中、防腐の目的でエタノール、食塩を添加しても差し支えない。蛋白質の加水分解反応は、無塩もしくは低塩条件下で行うが、食塩非存在下で行うことが好ましい。なお、低塩条件とは、食塩濃度5（重量/容量）%以下の条件を意味する。反応終了後、未反応の原料蛋白質、菌体等の不溶物は遠心分離や濾過等、従来の分離法を用いて除去すればよい。生成した各蛋白質分解液のグルタミン酸遊離率やアミノ酸遊離率は、酵素法によるグルタミン酸定量、アミノ酸分析による遊離アミノ酸量の定量、全窒素量の定量から求めることができる。本発明により得られる蛋白質加水分解液は、窒素含有率やグルタミン酸などのアミノ酸含有率が高く、呈味力が高い。

【0016】

【実施例】以下、実施例を挙げ、本発明の高活性変異株の分離法及び蛋白加水分解物の製造などについて詳しく説明するが、本発明はこれらによって制限されるものではない。なお、実施例中におけるグルタミナーゼ活性及びプロテアーゼ活性の測定法は次の通りである。グルタミナーゼ活性は、ヒドロキシルアミン存在下の酵素反応で生成する γ -グルタミルハイドロキサム酸を定量するハートマンらの変法 (Hartman, S.C.: J. Biol. Chem., 243, 853-863 (1968)) に従い測定した。具体的には、試薬A (0.4M トリスアミノメタン、0.2M 塩酸ヒドロキシルアミン (pH 7.0)) と試薬B (100 mM L-グルタミン、20 mM 還元グルタチオン (pH 7.0)) との等量混合液 1 ml に高活性変異株の培養液 200 μ l を加え、37℃で1時間インキュベートする。次に、反応停止及び発色のために、(1) 3N 塩酸、(2) 12% トリクロロ酢酸及び(3) 5% 塩化第二鉄六水和物を0.1N 塩酸溶液に溶解した溶液のそれぞれの等量混合液 1 ml を加え、攪拌し、この反応液上清の525 nmでの吸光度を測定して酵素活性を求めた。なお、上記条件下において1分間に1 μ molの γ -グルタミルハイドロキサム酸を生成させる酵素活性を1単位 (U) とした。

【0017】また、プロテアーゼ活性の測定は、通常行われているアンソン-萩原変法 (B. Hagihara et al.: J. Biochem., 45, 185 (1958)) に従い測定した。具体的には、0.75% カゼイン溶液 400 μ l と0.24 M リン酸水素二ナトリウム溶液 (pH 7.5) 100 μ l を37℃で5分間ブレインキュベートし、そこへ酵素溶液 (培養物の上清等) 10~100 μ l を加え、37℃で10分間インキュベートする。次に、反応停止のために(1) 0.1M トリクロロ酢酸、(2) 0.2 M 酢酸ナトリウム及び(3) 0.33M 酢酸の各等量混合液を加え、更にこの反応液の上清 200 μ l を0.55M 炭酸ナトリウム溶液 500 μ l に加え、そこに2倍に希釈した市販のフェノール試薬 100 μ l を添加し、直ちに攪拌後、30℃で30分間インキュベートし、この反応液の660 nmでの吸光度を測定して酵

素活性を求めた。なお、上記条件下において1分間に1 μ g チロシン相当のFolin 呈色を示す非蛋白質物質を生成する活性を1単位 (U) とした。

【0018】実施例1

培養した親株、アスペルギルス・オリゼ AJ 117290 株 (FERM P-14259) のPDA斜面培地 (市販ポテトデキストロース培地) から得られた孢子懸濁液に2 mg/ml のニトロソグアニジン溶液をそれぞれ孢子懸濁液と等量混合し、30℃で30分間インキュベートした。この孢子懸濁液をPDA培地に塗布し、30℃で4~7日間培養した後、培地表面に生育したコロニーを採り、PDA斜面培地で30℃で4~7日間培養した。このようにして得た変異株500株をそれぞれ第1表に示す液体培地Aで30℃、64時間振とう培養し、当該培養液のグルタミナーゼ活性及び培養液上清のプロテアーゼ活性を測定した。これら変異株より、継代培養後も安定して高い酵素活性を示した変異株Gを選抜した。この変異株Gのグルタミナーゼ活性及びプロテアーゼ活性を親株並びに市販種麹からの分離株である種麹分離株B (アスペルギルス・オリゼ・ヴァラエティ・エフュサス (*A. oryzae* var. *effusus*)) AJ 117332 株 (FERM P-15957)、更に工業技術院生命工学工業技術研究所から分譲されたアスペルギルス・ソーヤ (*A. sojae*) Ben-1 (FERM P-7522) 及びPFA-118 (FERM P-7524) と比較した。なお、これら2株は、細胞融合による2倍体株の半数体化処理により得られた高活性株で、醤油麹において高いプロテアーゼ活性、グルタミナーゼ活性を示した菌株である (特公平3-73271号公報)。その結果を第2表に示す。

【0019】第2表から明らかなように、変異株Gは親株と比較してプロテアーゼ活性は変わらず、グルタミナーゼ活性は6倍も上昇した。種麹分離株Bは、市販種麹からの分離株で、液体培養において最もグルタミナーゼ活性の高かった株であるが、プロテアーゼ活性は著しく低かった。また、醤油麹における高活性株2株はいずれも、プロテアーゼ活性、グルタミナーゼ活性ともに変異株Gより明らかに低い値であった。なお、この変異株Gはアスペルギルス・オリゼ AJ 117331 株と命名され、前記したように、工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されており、その受託番号はFERM P-15956である。

【0020】

【表1】

第1表 培地Aの組成

成 分	濃度 (%)
15%フスマ抽出液	50
分離大豆蛋白	1.5
KH ₂ PO ₄	0.5
(pH5.5に調整)	

10

*

第2表 培養液のグルタミナーゼ活性、プロテアーゼ活性比較

菌株	グルタミナーゼ活性 (U/ml)	プロテアーゼ活性 (U/ml)
親株	0.02	1000
変異株G	0.12	1000
種麹分離株B	0.02	10
P-7522	0.005	200
P-7524	0.005	150

【0022】実施例2

以下の操作は無菌的に行った。オートクレーブ処理 (121℃、20分) を行った5%分離大豆蛋白溶液20mlに、実施例1の親株 (FERM P-14259)、変異株G (FERM P-15956)、種麹分離株B (FERM P-15957) 及び醤油麹における高活性株FERM P-7522とFERM P-7524のそれぞれの培養物5mlを加えて混合し、40℃で10日間反応させた。親株 (FERM P-14259)、変異株G (FERM P-15956)、種麹分離株B (FERM P-15957) 及びFERM P-7522、FERM P-7524のそれぞれの培養物に、更に市販酵素製剤である「グルタミナーゼダイワ」(大和化成(株)製)をグルタミナーゼの必要十分量である0.01%添加し、同様に反応させたものを比較対照とした。これら反応物の上清について、全窒素、アミノ酸分析によるアミノ酸遊離量の測定を行った。グルタミナーゼ遊離量、全窒素から求めたグルタミナーゼ遊離率 (グルタミナーゼ遊離量 (g/dl) / 全窒素 (g/dl)) を第3表に示す。なお、第3表は市販酵素製剤である「グルタミナーゼダイワ」無添加の系を表す。第3表に示した通り、変異株Gの全窒素量は親株と同値であるが、変異株Gのグルタミナーゼ遊離率は親株、種麹分離株B及び醤油麹における高活性株に比して著しく高い値であった。

【0023】次に、親株 (FERM P-1425

9)、変異株G (FERM P-15956)、種麹分離株B (FERM P-15957) 及び醤油麹における高活性株であるFERM P-7522、FERM P-7524のそれぞれについての市販酵素製剤「グルタミナーゼダイワ」無添加系 (-G) 及び添加系 (+G) のグルタミナーゼ遊離率並びにそれぞれの値から求めたグルタミナーゼ遊離率比 ((グルタミナーゼ遊離率 (-G) / グルタミナーゼ遊離率 (+G)) × 100) を第4表に示す。第4表に示した通り、親株、種麹分離株B及び醤油麹における高活性株FERM P-7522、FERM P-7524のグルタミナーゼ遊離率比は低く、グルタミナーゼ活性は不十分であった。しかし、変異株Gのグルタミナーゼ遊離率比は100%であり、このことは変異株Gのグルタミナーゼ活性は市販酵素製剤「グルタミナーゼダイワ」無添加でも十分であることを示している。また、親株 (FERM P-14259)、変異株G (FERM P-15956)、種麹分離株B (FERM P-15957) 及び醤油麹における高活性株FERM P-7522のそれぞれの分解液のアミノ酸分析から求めたグルタミナーゼ遊離率 (アミノ酸遊離量 (g/dl) / 全窒素 (g/dl)) を第5表に示す。第5表に示した通り、変異株Gの培養物による分解液のアミノ酸遊離率は、グルタミナーゼ及びグルタミナーゼ以外の大数のアミノ酸についても親株、種麹分離株B及び醤油麹における高活性株FERM P-7522に比して高い値であり、呈味力の強い分解液であった。

【0024】

* * 【表3】

第3表 分解液のグルタミン酸遊離率

菌 株	グルタミン酸遊離量 (g/dl)	全窒素量 (g/dl)	グルタミン酸遊離率
親株	0.45	0.60	0.75
変異株G	0.60	0.60	1.00
種廻分離株B	0.43	0.58	0.74
P-7522	0.38	0.59	0.61
P-7524	0.35	0.59	0.58

【0025】

※ ※ 【表4】

第4表 分解液のグルタミン酸遊離率比

菌 株	グルタミン酸 遊離率(-G)	グルタミン酸 遊離率(+G)	グルタミン酸 遊離率比(%)
親株	0.75	1.00	75
変異株G	1.00	1.00	100
種廻分離株B	0.74	0.90	82
P-7522	0.61	0.85	71
P-7524	0.58	0.83	70

【0026】

30 【表5】

第5表 分解液のアミノ酸遊離率

アミノ酸	親株	変異株C	複選分離株B	P-7522
Asp	0.21	0.52	0.45	0.46
Thr	0.31	0.22	0.19	0.20
Ser	0.32	0.32	0.28	0.28
Glu	0.75	1.00	0.74	0.61
Pro	0.14	0.23	0.16	0.19
Gly	0.14	0.18	0.15	0.14
Ala	0.21	0.25	0.22	0.21
Cys	0.04	0.05	0.07	0.05
Val	0.29	0.32	0.29	0.26
Met	0.08	0.06	0.07	0.05
Ile	0.28	0.32	0.27	0.27
Leu	0.44	0.48	0.43	0.44
Tyr	0.14	0.26	0.22	0.24
Phe	0.31	0.34	0.30	0.32
Lys	0.31	0.36	0.32	0.32
His	0.12	0.14	0.14	0.14
Arg	0.40	0.46	0.40	0.42
計	4.49	5.50	4.70	4.60

【0027】

【発明の効果】本発明の高活性変異株は、液体培養において親株の約6倍のグルタミナーゼ活性を有し、かつ高いプロテアーゼ活性を有している。この高活性変異株の*

30* 培養物を蛋白質に作用させて得られる蛋白加水分解物

は、窒素含有率及びアミノ酸含有率、特にグルタミン酸含有率が高いものであり、呈味力の強い調味料として有利に利用することができる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁴

識別記号

F I

(C12N 1/15

C12R 1:69)

(72)発明者 片岡 二郎

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の
素株式会社食品総合研究所内